

VU Research Portal

A neuron in times of stress

van Ziel, A.M.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

van Ziel, A. M. (2020). *A neuron in times of stress: The cell-autonomous and cell non-autonomous unfolded protein response in physiology and tau pathology*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse samenvatting

Hoofdstuk 1 geeft een diepgaand overzicht van de belangrijkste onderwerpen die in dit proefschrift zijn onderzocht, hier zijn de hoogtepunten samengevat. Eiwithomeostase (proteostase) wordt bepaald door de balans tussen aanmaak, juiste vouwing en afbraak van eiwitten. Proteostase van het endoplasmatisch reticulum (ER) wordt gecontroleerd door de zogenaamde 'unfolded protein response' (UPR). De UPR omvat drie signaaltransductieroutes die aangezet worden door de ER transmembraan eiwitten IRE1, PERK en ATF6. Deze eiwitten detecteren de ophoping van niet of verkeerd gevouwen eiwitten in het ER (ER stress) en activeren signaalcascades. Het doel van de UPR is om ER-proteostase te herstellen door de aanmaak van eiwitten tijdelijk te blokkeren, het aantal chaperone-eiwitten te verhogen en de afbraak van verkeerd gevouwen eiwitten te stimuleren. Verstoorde proteostase speelt een prominente rol in veel ziekten, waaronder tauopathiën. UPR-activatiemarkers zijn waargenomen in granulovacuolaire degeneratie-lichaampjes (GVBs). De GVBs zijn aanwezig in tauopathiën. Morfologisch presenteren GVBs zich als een dichte kern omringd door een heldere vacuole. Ze bevinden zich in het cytoplasma van neuronen waar in het algemeen ook tau-pathologie aanwezig is. Aangezien de UPR essentieel is voor het goed functioneren van de cel en ook sterk geassocieerd is met tauopathiën, is het noodzakelijk om de gevolgen van UPR-signalering in kaart te brengen. Afgezien van intracellulaire effecten, kan de UPR ook de eiwitsecretie en de proteostase extra- en transcellulair beïnvloeden. Het overkoepelende doel van dit proefschrift was om de regulatie van proteostase in gezonde neuronen en neuronen met tau-pathologie te onderzoeken met daarbij een specifieke focus op de cel-niet-autonome UPR.

In **Hoofdstuk 2** is de eerder gerapporteerde overdracht van UPR-activatie van donorcellen naar naïeve acceptorcellen onderzocht. Onze resultaten tonen aan dat een transmissieprotocol waarbij de UPR wordt geactiveerd met farmaca in donorcellen en geconditioneerd media (CM) naar acceptorcellen wordt overgezet, ongeschikt is om UPR-transmissie te bestuderen vanwege de aanwezigheid van farmaca in het CM ondanks wasprocedures. Bovendien is er geen bewijs gevonden voor UPR-transmissie in andere transmissieprotocollen waarbij de UPR werd geactiveerd door middel van deprivatie van voedingsstoffen of verschillende genetische veranderingen, noch bij CM-overdracht noch in een co-kweekparadigma. We concluderen dat cel-tot-cel-transmissie van UPR-activatie niet plaatsvindt in celkweek.

In **Hoofdstuk 3** is een potentieel effect van de UPR op secretie onderzocht. De UPR-gemedieerde regulatie van de onconventionele secretiefactor GRASP55 is bestudeerd in primaire muizenneuronen. Activatie van de UPR verhoogde de mRNA- en eiwitexpressie van GRASP55. De expressie van GRASP65 werd niet beïnvloed.

UPR-activatie leidde niet tot subcellulaire relocalisatie van GRASP55 in primaire neuronen. De door de UPR verhoogde GRASP55-expressie was afhankelijk van de PERK- en IRE1-route. Expressie van de actieve vorm van XBP1 (onderdeel van de IRE1-route) in afwezigheid van ER-stress was echter niet voldoende om GRASP55 te verhogen. GRASP55 'knockdown' had geen invloed op inductie of herstel van de UPR. Concluderend, de UPR reguleert de onconventionele secretiefactor GRASP55 door expressie te verhogen en dit is afhankelijk van de PERK- en IRE1-route in neuronen.

In **Hoofdstuk 4** is de vorming van GVBs onderzocht. De meeste gegevens over GVBs zijn verzameld in post-mortem studies met statische pathologie. Een GVB-onderzoeksmodel zou de mogelijkheid bieden om de oorsprong en functie van GVBs te onderzoeken. Hier presenteren we verschillende *in vivo*-GVB-muismodellen en het eerste *in vitro*-model dat GVB-vorming in gekweekte primaire muizenneuronen laat zien. We toonden aan dat GVB-vorming werd geïnduceerd door tau-pathologie op een neuron-selectieve manier in de *in vivo*- en *in vitro*-modellen. De *in vitro*-GVBs zijn gekarakteriseerd met behulp van confocale- en superresolutie-microscopie en elektronenmicroscopie. Dit liet zien dat de *in vitro*-GVBs dezelfde eiwitsignatuur bevatten als GVBs in menselijke hersenen. De GVBs werden gelabeld door antilichamen tegen CK1 δ , CK1 ϵ , CHMP2b en de UPR-activatiemarkers gefosforyleerd (p)PERK, pelf2 α en pIRE1 α . CK1 δ gelabeld met groen fluorescerend eiwit (GFP) werd waargenomen in GVBs, in tegenstelling tot GFP alleen. Morfologische en functionele karakterisering toonde aan dat GVBs proteolytisch actieve lysosomale organellen zijn omsloten door een enkel membraan. Concluderend, we presenteren het eerste *in vitro*-GVB-model waarbij GVB-vorming wordt geïnduceerd door tau-pathologie op een neuron-selectieve manier. Een selectieve groep eiwitten verzamelt zich in de kern van de GVBs die is omgeven door een vacuole en een enkel membraan. Ons onderzoek laat zien dat GVBs proteolytisch actieve lysosomale organellen zijn.

A

Hoofdstuk 5 biedt een breder perspectief op de resultaten in dit proefschrift door hoofdstukoverstijgende inzichten en conclusies te bespreken. De UPR omvat een complex signaleringsnetwerk waar UPR-paden elkaar beïnvloeden. Tevens zijn er celtype-specifieke verschillen in UPR-signalering. Hoewel we laten zien dat er geen cel-tot-cel transmissie is van UPR-activatie in celkweek (hoofdstuk 2), zijn er eerder wel extra- en transcellulaire effecten op proteostase door UPR- en 'heatshock response'-signalering beschreven. Het bestuderen van het UPR-afhankelijke secretoom zou nieuwe cel-niet-autonome functies kunnen onthullen. Daarnaast laten we zien dat er UPR-activatiemarkers aanwezig zijn in GVBs. Deze informatie kan bijdragen tot het ontrafelen van de oorsprong van GVBs. GVBs zouden bijvoorbeeld kunnen ontstaan door autofagie van het ER tijdens het uitzetten van de UPR na activatie. Het

is nog onduidelijk of er actieve UPR-signalering is in GVB-positieve neuronen en of de UPR mechanistisch betrokken is bij de GVB-vorming. Er zijn meerdere onderzoeken die aantonen dat de UPR een veelbelovend therapeutisch aangrijppunt kan zijn voor neurodegeneratieve ziekten, waaronder tauopathieën. Inzicht in de rol van de UPR in de pathogenese van tauopathieën en meer kennis van neuronale UPR-signalering waaronder de intra-, extra- en transcellulaire UPR-geïnduceerde effecten, is van groot belang bij de zoektocht naar een effectieve therapie.

